

Omaggio dell'A.

Ospedale di S. Spirito in Roma, sezione Alessandrina
diretta dal Prof. A. BIGNAMI

B. 9 150

INTORNO ALL' AZIONE DELLA CHININA

SUI

PARASSITI DELLA MALARIA

Dott. ACHILLE CAPOGROSSI

Assistente

Estratto dalla Riforma Medica N. 92 e 93, Anno XVIII

ROMA

TIPOGRAFIA DI F. FAILLI
Via della Consolazione, 64
1902

Ospedale di S. Spirito in Roma, sezione Alessandrina
diretta dal Prof. A. BIGNAMI

INTORNO ALL' AZIONE DELLA CHININA

SUI

PARASSITI DELLA MALARIA.

Dott. **ACHILLE CAPOGROSSI**

Assistente

Estratto dalla Riforma Medica N. 92 e 93, Anno XVIII

ROMA

TIPOGRAFIA DI F. FAILLI
Via della Consolazione, 64
1902



Il modo di agire della chinina sui parassiti della malaria fu studiato nel vivo da vari osservatori, i quali generalmente ammisero che consistesse in un'azione deleteria dell'alcaloide sul corpo parassitario, analogamente a quello che il Binz aveva veduto studiando il comportamento dell'istesso alcaloide verso le amebe. Recentemente fu emessa da Lo Monaco e Panichi (1) la teoria che la chinina potesse determinare anche la fuoriuscita dei parassiti dai globuli rossi o il loro distacco, se si considerano aderenti, non dentro gli eritrociti. Tale opinione si poggia sopra osservazioni fatte in preparati a fresco di sangue malarico, aggiungendo una goccia di soluzione di chinina a lato del coprioggetti. Si ammise anzi che la resistenza del parassita allo specifico fosse vinta quando si giungeva a determinarne nel preparato la fuoriuscita dal globulo rosso con una soluzione dell'alcaloide di una certa concentrazione. E dalla resistenza, così misurata, si traevano conclusioni sulla virulenza degli emosporidi e sulla patologia delle perniciose.

Le indagini eseguite da me (2) intorno all'istesso argomento, mi hanno portato sinora a queste conclusioni:

1° La fuoriuscita dei parassiti della malaria dai globuli rossi del sangue può essere determinata indifferentemente nei preparati, con l'acqua distillata o con soluzioni ipotoniche di chinina o di cloruro di sodio.

2° Condizioni indispensabili alla produzione del fenomeno sono il rigonfiamento e la decolorazione del globulo ospite, in

seguito allo squilibrio osmotico, stabilitosi fra esso ed il nuovo ambiente artificiale, per la penetrazione di soluzioni ipotoniche nel preparato. Si deve ritenere quindi che la fuoriuscita è, in queste circostanze, nulla più che un fenomeno fisico.

3° Si può ammettere che un altro coefficiente della fuoriuscita consista probabilmente nel rigonfiarsi dello stroma globulare prima del protoplasma parassitario.

4° Il concetto della sede endoglobulare dei parassiti si presta ad una logica interpretazione di tutti questi fenomeni. Lo stroma imbevendosi di liquido e da discoide facendosi sferico, spingerebbe fuori il parassita innicchiato nel suo interno.

5° Anche dato però che questo modo di spiegare la fuoriuscita dei parassiti possa essere per nuove ricerche modificato, è certo che la presenza della chinina nelle soluzioni aggiunte ai preparati di sangue malarico non è in relazione con la fuoriuscita degli emosporidii dai globuli rossi, potendosi ottenere questo fenomeno nelle stesse condizioni di esperienza per soluzioni di alcaloide molto diverse fra loro, o con altri liquidi; e, anche con questi svariatisimi mezzi, non essendo un risultato costante, ma dipendente dalle condizioni suindicate. (N. 1, 2).

6° Se la chinina si aggiunge al sangue malarico in modo che gli eritrociti non siano rigonfiati e decolorati, adoperando cioè soluzioni di alcaloide fatte nella isotonica o vetrini coprioggetti chinizzati, lasciando essiccare sopra di essi (prima di adoperarli) una goccia di soluzione allungatissima di chinina, di regola (*) non si verifica mai neanche la fuoriuscita dei parassiti.

Non siamo quindi autorizzati a ritenere che l'azione terapeutica della chinina consista nel determinare l'emigrazione del parassita dal globulo rosso.

7° La chinina agisce *in vitro* determinando l'immobilità dei parassiti in via di sviluppo, e talora inducendo in essi delle modificazioni per le quali assumono un aspetto più opaco e talvolta una tinta emoglobinica, o pure si fa distinto in essi un corpicciuolo jalino nettamente limitato, circondato da un alone chiaro (nucleo e cromatina nucleare).

(*) Sinora dalle mie indagini non risulta che questa regola soffra eccezioni.

Queste conclusioni scaturiscono da esperienze fatte *in vitro* e la loro portata rimane entro questi limiti, come è naturale e come ho enunciato più volte (**).

Non è lecito, come qualcuno fa, inferire dalle osservazioni *in vitro*, ciò che può avvenire *in vivo*. Si può dire tutt'al più (come ho già scritto) che i risultati da me ottenuti coi vetrini chinizzati non sono in contraddizione con le descrizioni che ci sono state date delle alterazioni strutturali dei parassiti dopo la somministrazione dello specifico. Io non ho sostenuto, come mi si attribuisce, che *in vivo* la chinina non possa produrre l'emigrazione dei parassiti dei globuli rossi. Ho detto che le ricerche fatte da altri non ci autorizzano a ritenere che questo fosse il modo di agire della chinina; e ripeto che da esperienze fatte su preparati non si debbono trarre conclusioni relative all'azione dei sali di chinina *nel vivo*, tanto

— — —

(**) Tali risultati sono, come si vede, quasi in perfetta antitesi con quelli avuti prima di me da Lo Monaco e Panichi intorno allo stesso argomento (1), e toglierebbero quindi ogni valore alle conclusioni di questi ultimi autori sulla azione della chinina e sulla patogenesi delle perniciose. Essi pertanto hanno mosso delle critiche alle mie indagini. La loro risposta è contenuta negli Atti dell'Accademia dei Lincei (1. dic 1901) e integralmente nei numeri 1, 2 della presente annata di questo giornale. Ho già sufficientemente commentato (3) quella parte della risposta che si legge negli atti dell'accademia suddetta. L'altra parte (Rif. Med. l. c. pag. 16), contenendo nuovi dati di fatto, richiedeva nuove indagini, che io ho eseguito e che ora espongo.

Ma debbo anche far rilevare che nella loro risposta gli A.A. prendono solamente in considerazione la comunicazione preventiva fatta all'Accademia medica di Roma il 30 Giugno 1901 dal Prof. Bignami a mio nome. In nota dicono che il mio lavoro originale (2), da essi troppo tardi ricevuto, non aggiunge nulla di nuovo alla comunicazione suddetta. Basta paragonare questa con ciò che è scritto nel lavoro specialmente a pag. 22, 23, 25-29 per vedere quanto vi sia di esatto in tale asserzione.

Ma v'ha di più. In un punto della loro risposta (Rif. Med. n. 1, pag. 5, 1902) mi attribuiscono l'opinione che l'acqua distillata o la soluzione di cloruro sodico siano le condizioni essenziali per poter riuscire ad assistere al distacco del parassita dal globulo. Ora è interessante sapere che della soluzione di NaCl, con la quale si può determinare l'emigrazione dei parassiti dai globuli rossi, non si parla affatto nella comunicazione, ma solo nel lavoro esteso.

meno poi quando quelle esperienze sono fondate su base erronea.

Per quello appunto che riguarda l'azione del rimedio nel vivo vi son ricerche di parecchi autorevoli osservatori (Bacelli Golgi, Marchiafava e Bignami, Mannaberg, ecc.) i cui risultati io ho già esposti estesamente nel mio primo lavoro. (2) Ora, come ho detto, nessuno di questi autori descrive un aumento delle forme libere dopo la somministrazione dell'alcaloide. Solamente Marchiafava e Bignami nel loro libro più recente (4) ammettono che i giovani parassiti delle febbri estivo-autunnali possano, per azione della chinina, abbandonare in alcuni casi il globulo rosso, e che, quando questo non sia molto alterato (essendo la forma che vi era contenuta poco sviluppata), possa sopravvivere. Così, secondo questi autori, si potrebbero spiegare casi di pernicioso in pazienti resi fortemente anemici da attacchi di malaria, nei quali l'amministrazione della chinina produsse la scomparsa dei parassiti, senza che per questo aumentasse lo stato anemico.

Che ciò possa avvenire per le forme estive giovanissime, che hanno invaso una piccola parte del globulo, si può comprendere facilmente. Il piccolo parassita ucciso dalla chinina e vicino alla periferia del globulo, può uscire dallo stroma, lasciando, per così dire, la presa. Ma l'abbandono del globulo in questo caso non è paragonabile a quello che si può avere *in vitro* con una soluzione di chinina. Abbiamo veduto che le soluzioni di chinina possono produrre l'emigrazione dei parassiti solamente quando scolorano e rigonfiano il globulo ospite comportandosi in ciò in modo identico all'acqua distillata o ad una soluzione ipotonica di cloruro di sodio.

Se la soluzione di chinina non dissolve l'emoglobina dell'emazia parassitifera (come quando si ha l'avvertenza di sciogliere l'alcaloide in una soluzione isotonica) la fuoriuscita del parassita più non ha luogo.

E si può dare di ciò un'altra dimostrazione.

Si fanno molti preparati di sangue a fresco da un malarico affetto da terzana comune o da quartana, e gli si somministra o gli si inietta sotto cute subito dopo un grammo di chinina. Dopo 12-15 minuti si incomincia a prenderne il sangue da una puntura al dito, raccogliendolo in tubetti di vetro capillari e avendo l'avvertenza che il sangue non li riempia,

7

ma lasci liberi i due estremi del tubo almeno per lo spazio di 2 cm. I tubetti in seguito si chiudono con una piccola lampada, e si centrifugano per separare il siero. Così si hanno vari tubi di siero preso in diversi periodi: ogni mezz'ora circa fino a sei ore dopo l'amministrazione del rimedio. Questi tubetti contengono verosimilmente, su di una quantità di siero, proporzioni diverse di alcaloide nelle condizioni in cui esso è veramente attivo contro l'infezione. I preparati che si dovranno esaminare in ultimo si possono tenere in una camera umida a 37°. Sui primi intanto i quali, anche a temperatura ambiente, non sono nel breve periodo di tempo alterati, si comincia a saggiare l'azione del siero chinizzato, fissando nel campo microscopico una forma parassitaria e ponendo una goccia di siero a lato del vetrino coprioggetti. In parecchie ricerche sinora eseguite con tale metodo non mi è riuscito mai di osservare il descritto fenomeno della emigrazione dei parassiti dal globulo rosso, qualunque sia il tubetto che si adoperi. È invece interessante vedere, come, sotto l'azione del siero chinizzato, i parassiti che hanno pseudopodi possono ritrarli e assumere la forma rotonda col pigmento generalmente disposto alla periferia, ciò che sta ad indicare con grandissima probabilità la loro morte. Il globulo rosso parassitifero rimane inalterato. Esso invece in altri preparati dell'istessa serie si decolora se si adoperano soluzioni ipotoniche chinizzate o no, o l'acqua distillata, ed allora si può assistere alla fuoriuscita del parassita contenutovi.

È evidente che il fenomeno producentesi in queste condizioni non può essere in alcun modo paragonato a quello che può aversi *in vivo* secondo Marchiafava e Bignami.

*
* *

La tesi della possibile caduta dei parassiti dai globuli nel plasma del sangue circolante per azione della chinina, si collega con altra della sede dei parassiti stessi rispetto alle emazie. C'è un periodo della vita degli emosporidi in cui questi sono certamente fuori dei globuli rossi (spore); in altri periodi di sviluppo invece essi sono certamente dentro: fase adulta e fase in via di sporulazione. Sembrerebbe quindi opportuno porre la questione del momento nel quale il parassita diventa veramente endoglobulare. È naturale ammettere che fra questi due stati dell'ematozoo vi debbano essere fasi intermedie.

Le forme giovani derivanti dalla sporulazione poi possono

rimanere libere nel plasmanon ricomparendo dentro i globuli rossi per la preparazione di un nuovo accesso, se la chinina viene somministrata al principio di questo (5).

Ma, con esperienze dirette, istituite su malati di terzana comune e di quartana, non ho potuto rilevare che per la somministrazione della chinina si abbia un aumento delle forme parassitarie in via di sviluppo libere (in rapporto a quelle endoglobulari) nei preparati a fresco e in quelli colorati con ematossilina ed eosina, fatti con sangue preso dal dito ogni mezz'ora fino a sei ore dopo la somministrazione del rimedio, e confrontati con altri preparati fatti prima. Da questi risultati sono autorizzato a ritenere che l'azione della chinina non consista nel determinare l'emigrazione dei parassiti in via di sviluppo dei globuli rossi, nella terzana comune e nella quartana.

L'aumento delle forme libere è stato invece, come si è detto, notato da Marchiafava e Bignami (l. c. a nota 4) in alcuni casi di infezione estiva grave, dopo la somministrazione della chinina, in preparati colorati col metodo di Romanowsky che permette di riconoscere con facilità anche le forme giovanissime apigmetate fuori dal globulo rosso. Ma ciò si può spiegare ricordando quello che si è detto sopra, che cioè nelle febbri estive si può sempre vedere un certo numero di parassiti giovanissimi come innicchiati in un punto della periferia del globulo, dal quale evidentemente si possono con facilità dividere dopo la loro morte.

*
* *

Se si depone una goccia di soluzione di cloruro di sodio al 0,36-0,38 % a lato del coprioggetti di un preparato a fresco di sangue malarico, la decolorazione delle emazie avviene come è naturale, in modo direttamente proporzionale alla facilità con cui il liquido penetra sotto il vetrino.

In alcuni casi cioè la diffusione del liquido è imperfetta e bisogna attendere molto tempo prima che le emazie comincino a cedere l'emoglobina, in altri casi invece, pure trattandosi di preparati fatti con l'istesso sangue, il liquido penetra bene e allora tutte le emazie del campo osservato si decolorano. Se in un preparato, nel quale le emazie fissate in un dato campo sono rimaste quasi inalterate, si porta l'osservazione in un punto più vicino a quello di penetrazione della goccia, si vedranno le emazie ridotte ad ombre. La differenza dunque non è dovuta ad altro che al diverso grado di penetrazione del

liquido. Vi sono, fra i due modi di comportarsi dei globuli, delle fasi intermedie. Si possono osservare cioè in uno stesso preparato dei punti in cui solo alcuni globuli sono ridotti ombre, mentre altri si presentano alterati in modo variabile: ora apparentemente più sferici e sbiaditi, ora variamente deformati.

Se in questi campi si trovano emazie parassitifere si può vedere che esse si decolorano completamente diventando ombre, mentre dei globuli circostanti conservano più o meno bene il loro colorito normale.

Ma ciò non accade con frequenza: di solito il globulo parassitifero si decolora unitamente agli altri. Nell'istante in cui si decolora e tende a farsi sferico si può assistere, anche con le soluzioni suddette, alla fuoriuscita dell'emosporidio. Non importa se queste soluzioni non contengono chinina.

Anche se in luogo di adoperare il cloruro sodico si adopera il solfato di magnesio (0,38 ‰) il fenomeno della fuoriuscita si ha nell'istesso modo che adoperando il cloruro sodico, l'acqua o le soluzioni di chinina clorurate o no, purchè nel campo osservato la penetrazione del liquido sia sufficiente a decolorare il globulo ospite. E' questo dunque il primo e più importante fattore dell'emigrazione dei parassiti.

*
* *

Le soluzioni di chinina, con le quali Lo Monaco e P a n i c h i (l. c.) ottenevano la fuoriuscita (o, come hanno poi corretto, il distacco) dei parassiti dai globuli rossi nei preparati, sono per se stesse ipotoniche, cioè decolorano, i globuli rossi ancora se si aggiungono ad esse, come facevano gli AA. su citati « poche gocce di soluzione al 0,90 ‰ di cloruro sodico ». A questa azione dissolvente sulle emazie è dovuto soprattutto, come ho dimostrato, il fenomeno della fuoriuscita, attribuito dai suddetti AA. alla chinina.

Ora essi asseriscono (6) che le soluzioni chinizzate che adoperavano contenevano per lo meno il 0,38 ‰ di cloruro sodico, e che con esse i globuli del preparato non si decoloravano. La ragione di ciò (del non decoloramento) consisterebbe secondo gli AA. nel fatto che « l'isotonia delle soluzioni di cloruro sodico è raggiunta nei preparati quando la goccia depositata al margine del vetrino contiene il 0,36-0,38 ‰ di questo sale ». E ciò (che è in opposizione con quello che abbiamo veduto e con quanto si sa intorno alla concentrazione isotonica delle soluzioni di NaCl rispetto al plasma sanguigno)

avverrebbe perchè « le condizioni in cui si trovano i globuli rossi disposti nel preparato in unico strato e difesi, anche quando si muovono, per la massima parte delle loro superficie esterne dalle pareti dei vetrini che le racchiudono, devono rinforzare la loro resistenza agli agenti che tendono ad alterarli ».

Se la soluzione al 0,38 % di cloruro di sodio non può investire i globuli, non li decolorerà; e questo accade non solo con la soluzione 0,38 % di NaCl, ma anche con l'acqua distillata. Non è dunque la resistenza dei globuli che è rinforzata, ma le condizioni esterne che sono cambiate.

Chi ha avuto occasione di ripetere molte volte tali esperienze avrà notato che talvolta anche con l'acqua distillata aggiunta a lato del vetrino, in alcuni punti del preparato i globuli rossi, pur movendosi lentamente per le correnti che si sono formate, non si decolorano talora se non dopo lunghissimo tempo. Ciò potrà dipendere dal fatto che in alcuni campi di osservazione (specialmente se lontani dal punto di penetrazione della goccia) il liquido si diffonde scarsamente e quando già è mescolato ai componenti del siero e all'emoglobina disciolta dei primi globuli che ha incontrati sul suo passaggio.

Si deve ritenere in questi casi che si è raggiunta l'isotonia adoperando l'acqua, e che la resistenza dei globuli è rinforzata contro la sua azione dissolvente?

Per ciò che riguarda particolarmente l'emazia parassitifera anche Lo Monaco e Panichi ammettono che essa si decolori quando avviene la fuoriuscita dell'emosporidio.

Su questo punto quindi, che è il più importante, poichè la fuoriuscita dei parassiti è sempre accompagnata dalla decolorazione del globulo, pare che non vi sia luogo a discussione fra me e gli egregi contraddittori.

Infatti anche nella loro nota più recente i suddetti AA. dicono (6):

« Da queste esperienze risulta evidente che le soluzioni clorurate e chinizzate da noi adoperate per istudiare l'azione della chinina sul parassita malarico erano appunto quelle che contenevano per lo meno il 0,38 % di cloruro di sodio o quantità ancora un po' maggiori di questo sale. Con queste soluzioni convenientemente chinizzate si possono osservare tutte le fasi dell'azione della chinina sul parassita, senza che esse esercitino alcuna influenza sugli altri globuli rossi del preparato;

e se ciò avviene *in vitro*, non c'è ragione che non debba ripetersi nel torrente circolatorio.

Se gli *altri* globuli del preparato non erano alterati, è lecito ritenere che quello parassitifero lo fosse.

Ma, se ciò avviene *in vitro* mi sembra molto dubbio che si debba ripetere anche nel torrente circolatorio. Se infatti, come hanno ammesso gli A.A. (7), la goccia di liquido aggiunta a lato del vetrino diluisce il sangue del preparato circa a metà, per mettersi nelle stesse condizioni *in vivo* bisognerebbe iniettare in circolo circa 5 litri di soluzione al 0,38 % di cloruro sodico convenientemente chinizzata. Ed allora probabilmente insorgerebbero dei fatti nuovi.

*
* *

Le correnti che si formano nei preparati non hanno certamente nel fenomeno della fuoriuscita da me descritto alcuna influenza e ciò per varie ragioni. Anzitutto per ammettere che i parassiti possano essere trascinati via dalle correnti, bisognerebbe dimostrare prima che fossero extraglobulari, cioè aderenti agli eritrociti e non inclusi in essi. Ora i più noti studiosi di malaria stanno invece per quest'ultimo concetto. Ma, anche se si sorvola su ciò, vi sono altri argomenti pei quali dobbiamo ammettere che la corrente è estranea al fenomeno, e cioè:

1.° Il modo di fuoriuscire dei parassiti ameboidi, che si fanno rotondeggianti ed in seguito scivolano allungandosi fuori della periferia del globulo e spesso gli rimangono vicinissimi.

Se questo fosse dovuto alla corrente, il parassita dovrebbe separarsi d'un tratto dall'ospite, come se ne fosse strappato, e dovrebbe essere trascinato via dalla stessa forza che lo ha distaccato.

2.° La fuoriuscita si osserva spesso quando nei preparati non c'è corrente, tutte le emazie del campo essendo immobili.

3.° La fuoriuscita (come ho potuto confermare recentemente anche con le soluzioni al 0,38 % di NaCl e MgSO₄) avviene spesso in direzione opposta a quella della corrente.

4.° La fuoriuscita non si ha mai se si adopera la soluzione isotonica. Se le correnti fossero capaci di distaccare i parassiti, questo dovrebbe avvenire qualche volta anche adoperando soluzioni isotoniche.

Ed a priori sembrerebbe possibile ammettere, per i paras-

siti che sono in parte endo, in parte extraglobulari, che una corrente molto forte, anche di sola soluzione fisiologica, riescisse a dividerli dall'eritrocito. Ma ciò non si verifica mai anche secondo altri osservatori (1).

Questi fatti inducono a ritenere dunque che, nelle esperienze descritte, la fuoriuscita sia indipendente dalle correnti che si formano nei preparati. Di solito accade che, se la corrente formatasi è forte, nessuna osservazione è possibile.

*
* *

Seguendo l'ordine delle mie ricerche io giunsi alla conclusione (2) che mentre lo scoloramento del globulo parassitario è condizione necessaria per l'emigrazione del parassita (*) dall'eritrocito, non è sempre sufficiente. In base dunque a fatti e considerazioni che qui non ripeto, essendo stati minutamente svolti nel mio lavoro, io ho dovuto ammettere l'esistenza di un altro fattore determinante la produzione del fenomeno. A me sembra che questo fattore consista nel rapido rigonfiarsi e decolorarsi dello stroma globulare. Se si stabilisce intorno al globulo osservato un ambiente ipotonico in modo che il globulo stesso possa decolorarsi e rigonfiarsi prima del parassita al quale è unito, questo esce. E non è la corrente che lo fa uscire perchè questa può, come si disse, mancare o essere debolissima e la fuoriuscita avvenire in senso opposto alla sua direzione. Contro l'ipotesi della corrente inoltre militano anche le altre ragioni esposte più sopra.

Il parassita esce prima che siano avvenute in esso quelle modificazioni che si vedono produrre dall'acqua o da liquidi ipotonici sulle forme parassitarie libere o divenute tali (pigmento alla periferia, vacuolizzazione). È necessario quindi ammettere che, mentre il liquido decolora il globulo, non fa sentire la sua azione sul parassita, il quale è pure avidissimo di acqua come il protoplasma in genere. Si può ritenere dunque che il parassita sia protetto per un certo tempo dallo stroma del globulo, cioè sia endoglobulare. Dall'analisi dei fatti si giunge dunque a questa conclusione.

(*) E' notevole il fatto che la decolorazione del globulo avviene spesso anche quando si ha l'occasione di assistere in un preparato comune di sangue a fresco alla emigrazione di un parassita, senza che si sia aggiunto alcun liquido al lato del vetrino.

Tale modo di vedere è avvalorato da ciò che, se nel campo osservato la penetrazione del liquido avviene molto lentamente, la decolorazione del globulo parassitifero si fa con grande lentezza ed intanto si vede che incomincia ad aumentare di volume anche il parassita. Quando l'eritrocito è divenuto a poco a poco ombra, il parassita, che ha già assunto la forma rotonda col pigmento alla periferia, rimane dentro lo stròma per quanto si prolunghi l'osservazione.

Ma anche se l'ipotesi da me proposta per spiegare il meccanismo della fuoriuscita potesse essere modificata per nuove indagini riguardanti specialmente la struttura dei globuli rossi, è certo il fatto che l'emigrazione dei parassiti avviene sempre nell'istesso modo con tutti i liquidi adoperati contenenti o no chinina. Questo alcaloide quindi non entra nella produzione del fenomeno.

*
* *

A sostegno di queste conclusioni non sarebbero certo necessari nuovi argomenti. Ho voluto tuttavia fare alcune altre indagini con lo scopo di ripetere un'esperienza già eseguita da altri e riguardante anche questa il modo di agire della chinina *in vitro*.

Si fa un piccolo salasso ad un malato di quartana doppia, ricco di parassiti. Il sangue si raccoglie in un matraccino sterilizzato contenente delle palline di vetro e si agita per pochi minuti per defibrinarlo; nello stesso tempo si fanno varî preparati a fresco del sangue preso dalla ferita, ed altri preparati si colorano con ematossilina. Dalla ferita si raccolgono pure venti gocce di sangue a parte in un tubo sterilizzato contenente delle palline di vetro, e vi si aggiunge una goccia di soluzione 1:15 di bicloridrato di chinina, e quindi si agita qualche minuto per defibrinarlo. Del sangue defibrinato raccolto nel matraccio si pongono pure venti gocce in un altro tubo, e vi si mescola una goccia della suddetta soluzione. In un terzo tubo contenente alcune palline di vetro si pongono altre venti gocce di sangue defibrinato con aggiunta della solita quantità di chinina, e si seguita ad agitare per circa mezz'ora.

Dopo ciò si fanno da questi tubi e dal matraccino numerosi preparati e si confrontano con quelli fatti prima prendendo direttamente il sangue dal malato. Mentre in questi ultimi preparati si vedevano le forme parassitarie quasi tutte,

meno rare eccezioni, endoglobulari, in quelli fatti dai vari tubi e dal matraccino si notavano parecchie forme certamente libere, altre certamente incluse in ombre o in globuli decolorati, altre dubbie, perchè essendo i globuli molto alterati e i parassiti col pigmento disposto a corona, poteva qualche volta nascere l'incertezza se il pallido alone che si vedeva intorno al pigmento appartenesse al parassita o al globulo divenuto ombra. Le osservazioni fatte non mi permettono di concludere che i parassiti liberi si trovassero in numero maggiore nel sangue defibrinato e chinizzato, che in quello defibrinato solo (*).

Piuttosto da questa ricerca ho potuto vedere che i globuli contenenti parassiti di quartana si decolorano con facilità anche pel solo fatto della defibrinazione del sangue, e che i parassiti, verosimilmente per l'agitazione subita dai globuli, possono farsi liberi nel siero. Ciò non è in disaccordo con una osservazione da tempo fatta da Marchiafava e Celli (8). Questi autori hanno osservato (con l'apparecchio a scosse di Buchner, che mantiene il sangue liquido per vari giorni) che dopo poche ore i parassiti erano in via di fuoriuscire dai globuli rossi, e dopo due o tre giorni erano in parte liberi nel plasma.

*
* *

Qualunque fosse il risultato che dall'ultima ricerca da me eseguita si potesse avere, ripetendola molte volte e in diverse condizioni di esperimento, è certo che non potrebbero dedursene delle conclusioni sul modo di agire della chinina nell'organismo. Siamo troppo lontani dalle condizioni che si hanno nel vivo.

(*) Avrei volentieri ripetuto più volte questa ricerca, quantunque superflua a sostegno della mia tesi, se Lo Monaco e Panichi (6) che l'hanno eseguita prima di me, per portare un argomento favorevole al loro modo di vedere, la avessero enunciata in modo completo. Essi non dicono come hanno raccolto il sangue, se lo hanno defibrinato, per quanto tempo lo hanno agitato, se hanno aggiunto la chinina prima o dopo la defibrinazione, e se e come abbiano stabilito dei controlli.

Per ciò che riguarda un'altra esperienza da essi fatta mescolando sangue malarico con un'uguale quantità di cloruro sodico al 5 0/0, vi sono pure le stesse incertezze,

Fra le esperienze che si possono fare *in vitro* con la chinina sui parassiti malarici meritano forse considerazione quelle da me fatte con vetrini chinizzati, e col siero di sangue dello stesso individuo dopo somministratagli la chinina. Anzi in quest'ultimo caso interviene in favore dell'attendibilità dei risultati un nuovo elemento. Siccome può esservi incertezza se la chinina agisca direttamente sul parassita o indirettamente, quando è stata assorbita, modificando le condizioni dell'ambiente in cui il parassita vive, si potranno avere, data per certa quest'ultima ipotesi, nel siero che si adopera quelle speciali qualità impartitegli dall'alcaloide e letali per l'ematozoo.

BIBLIOGRAFIA.

- (1) Lo Monaco e Panichi. L'azione dei farmaci antiperiodici sul parassita della malaria. Rend. della R. Accademia dei Lincei (Scienze fisiche, matem. e naturali) 1. e 2. semestre 1899, 1. sem. 1900, 1. sem. 1901. — (2) Capogrossi. Intorno all'azione della chinina sui parassiti della malaria. Policlinico, Sezione Medica, 1901, n. 12 e 12 bis. — (3) Ibid. Intorno alla fuoriuscita dei parassiti della malaria dai globuli rossi e all'azione della chinina. Policlinico, Sezione Pratica, 18 gennaio 1902. — (4) Marchiafava e Bignami. Malaria. William Wood and Company, New-York, 1900. — (5) Antolisei. Riforma Medica, 1890. Vedi estratto. — (6) Lo Monaco e Panichi. Riforma Medica, n. 2, 1902. — (7) Ibid. Rend. Accad. dei Lincei (Scienze fisiche, matemat. e naturali) 2.^o semestre 1899 (pag. 117). — (8) Marchiafava e Celli. Archivio per le Scienze mediche, vol. X, n. 9, 1886.

